茶皂素对奶牛免疫功能的影响

常肖肖[1] 张议夫[1] 赵士萍[1] 蒋琦辉[1] 王 炳[1] 方洛云[1] 熊本海[2*] 蒋林树[1*]

（1. 奶牛营养学北京市重点实验室，北京农学院动物科学技术学院，北京 102206；2. 中国农业科学院北京畜牧研究所，北京 100193）

摘 要：本试验旨在研究茶皂素对荷斯坦奶牛的血清免疫相关细胞因子含量及其mRNA表达量的影响。试验采用4×4拉丁方设计，选取4头瘤胃瘘管奶牛，每头奶牛分别灌注0（对照）、15、30、45 g/d的茶皂素，预试期14 d，正试期21 d，共4期。采用酶联免疫吸附剂测定（ELISA）法试剂盒测定血清中免疫球蛋白（Ig）、白细胞介素（IL）和肿瘤坏死因子-α（TNF-α）的含量，采用实时荧光定量PCR方法测定淋巴细胞*IL*-1、*IL*-6、*IL*-10和*TNF*-α mRNA表达量。结果显示：1）30 g/d茶皂素组奶牛血清IgM含量显著高于对照组（P<0.05）。2）15 g/d茶皂素组奶牛血清IL-1含量显著高于对照组和45 g/d茶皂素组（P<0.05）。3）与对照组相比，15、30、45 g/d茶皂素组奶牛血清*IL*-1、*IL*-6、*IL*-10、*TNF-α* mRNA表达量均无显著差异（P>0.05），但45 g/d茶皂素组可提高以上细胞因子mRNA表达量。由此可见，茶皂素可提高奶牛血清中Ig及免疫相关细胞因子含量，并提高细胞因子*IL*-6 mRNA表达量，表明茶皂素可提高奶牛免疫功能。

关键词：茶皂素；免疫；细胞因子；奶牛

中图分类号：S823

随着我国奶牛产业的不断发展和全世界奶业的竞争越发激烈化，提高饲养管理水平和奶牛自身健康就显得尤为重要。由于化学药物和抗生素残留问题一直困扰着奶牛养殖业的可持续发展，因此在研究奶牛饲粮中应用植物源性添加剂调节增强奶牛自身免疫机能迫在眉睫，开发绿色植物源性饲料添加剂代替化学添加剂成为了一种必然趋势。

茶皂素（tea saponin）作为一种植物源性提取物，具有无公害、纯天然、残留少等特点，并在生物活性方面有提高免疫机能、消炎、抑菌、抗肿瘤等作用[1]，已成为畜牧养殖和科研机构研究的常用原料。茶皂素也称之为茶皂甙，属于五环三萜类结构化合物[2]，基本结构由甙元、糖体和有机酸 3 部分组成，是从山茶科（茶、山茶、油茶）植物种子中提取的一种糖式化合物[3]。彭春雨等[4]研究表明，茶皂素可以提高湖羊的采食量和生长性能，在每头产奶牛饲粮中添加 8 g 茶皂素可显著提高产奶量。Sagesaka 等[5]、童勇等[6]研究证明，茶皂素可

收稿日期：2016-09-09

基金项目："十二五"国家科技支撑项目（25012BAD14B09）；"十三五"国家重大科技专项（2016YFDO70020，2016YFDO700205）；北京市农业局北京市现代农业产业技术体系奶牛创新团队项目

作者简介：常肖肖（1993—），女，山东泰安人，硕士研究生，研究方向为奶牛营养与免疫。E-mail： c-x-x2@163.com

*通信作者：熊本海，教授，博士生导师，E-mail： xiongbenhai@caas.cn；蒋林树，教授，博士生导师，E-mail： kjxnb@vip.sina.com

以有效抑制由角叉胶诱发的大鼠足浮肿及由二甲苯导致的小鼠耳廓肿胀，提高小鼠热刺激体表的痛阈，其抗炎特性主要表现在改善炎症初始阶段受障碍毛细血管的通透性。韩志红等[7]研究了油茶皂素对荷瘤小鼠的肿瘤抑制性试验，结果表明油茶皂素对动物肿瘤具有明显的抑制作用。李静姬等[8]研究发现，茶皂素能够明显促进雏鸡免疫器官成熟，进而提高其免疫功能。陈玮等[9]报道，饲粮中添加茶皂素对肉鸡的脾脏指数和胸腺指数没有显著影响，但均有提高的趋势。因此，本试验旨在通过研究茶皂素对奶牛血清中细胞因子含量及其基因表达量的影响，探究其对奶牛免疫功能的调节作用。

1　材料与方法

1.1　试验材料与动物

茶皂素（皂甙含量≥65%）购自浙江东方茶叶有限公司常山分公司，深棕色细小粉末状。选用装有永久性瘤胃瘘管的荷斯坦奶牛为作为试验动物，由北京诚远胜隆养殖有限公司提供。

1.2　试验设计与饲养管理

试验采用4×4拉丁方试验设计，选择胎次（2~3胎）、泌乳天数[(153±28) d]、产奶量[(24.5±3) kg/d]相近，身体健康、体态相似且体重在500 kg左右的4头永久性瘤胃瘘管荷斯坦奶牛，每头奶牛分别灌注0（对照）、15、30、45 g/d的茶皂素，预试期14 d，正试期21 d，共4期。试验奶牛饲喂全混合日粮（TMR），自由采食，自由饮水，每日挤奶2次。基础饲粮组成及营养水平见表1。

表1　基础饲粮组成及营养水平(干物质基础)

Table 1　Composition and nutrient levels of the basal diet (DM basis)　　%

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
青贮玉米 Corn silage	28.57
玉米 Corn	15.73
全棉籽 Whole cottonseed	3.19
苜蓿干草 Alfalfa hay	13.34
羊草 *Leymus chinensis*	11.20
干酒糟及其可溶物 DDGS	2.99
压片玉米 Pressure corn piece	7.16
豆粕 Soybean meal	11.53
棉籽粕 Cottonseed meal	3.87
预混料 Premix1)	1.96
食盐 NaCl	0.46
合计 Total	100.00

营养水平 Nutrient levels[2)]

产奶净能 NE_L/(MJ/kg)

粗脂肪 EE

粗蛋白质 CP

酸性洗涤纤维 ADF

中性洗涤纤维 NDF

钙 Ca

磷 P

[1)]预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of the diet：Cu 800 mg, Mn 1 200 mg, Zn 3 300 mg, Se 30 mg, Co 20 mg, Fe 1 400 mg, I 70 mg, VA 1 100 000 IU, VD 330 000 IU, VE 3 000 IU。

[2)]产奶净能为计算值，其他营养水平为实测值。NE_L was a calculated value, while the other nutrient levels were measured values.

1.3 样品采集与保存

试验期每期第20天，使用真空促凝采血管进行尾静脉无菌采血，血样于3 000 r/min离心15 min后静置2 h，制取血清，于-80 ℃保存备用。同时用抗凝真空采血管采集15 mL血液，提取淋巴细胞，用于细胞因子mRNA表达量的测定。

1.4 指标测定与方法

1.4.1 生产性能测定

喂料时, 记录每头牛喂料量、剩料量，计算平均日采食量。

记录试验期每头奶牛早、晚产奶量，计算产奶量。每期第18天并连续3 d按早∶晚=6∶4的比例采集50 mL鲜乳，加3滴重铬酸钾防腐剂，送至北京市奶牛中心用LACTOSCAN型全自动超声波乳成分分析仪测定干物质、乳糖、乳蛋白和乳脂含量，计算乳糖率、乳蛋白率和乳脂率。

1.4.2 血清免疫指标测定

血清免疫球蛋白G（IgG）、免疫球蛋白A（IgA）、免疫球蛋白M（IgM）、白细胞介素-1（IL-1）、白细胞介素-6（IL-6）、白细胞介素-10（IL-10）、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）含量均用森贝伽（南京）生物科技有限公司的酶联免疫吸附剂测定（ELISA）法试剂盒测定，试剂配制和操作步骤按说明书进行。

1.4.3 免疫相关细胞因子 mRNA 表达量的测定

淋巴细胞分离及总 RNA 提取：外周血与 D-Hank’s 液以 1:1 稀释，加淋巴细胞分离液以1 200×*g* 离心 20 min，吸取单个核细胞层，加 D-Hank’s 液以 900×*g* 离心 10 min，2 次。收集淋巴细胞沉淀，加入 1 mLTrizol，4 ℃静置 5 min，加 200 μL 氯仿，混匀，静置 5 min，10 000×*g*

离心 15 min，取上层水相加同体积异丙醇，冰上孵育 10 min，10 000×*g* 离心 10 min，弃上清，加 1 mL 75%乙醇洗涤，10 000×*g* 离心 5 min，得到 RNA 沉淀。

反转录及实时荧光定量 PCR：根据 PrimeScript® RT Kit（cDNA 第 1 链合成试剂盒）反转录试剂盒进行操作制备 cDNA。实时荧光定量 PCR 程序参照 SuperReal PreMix Plus (SYBR Green）试剂盒进行。参照文献[11]设计引物，实时荧光定量 PCR 引物序列及参数见表 2，引物由上海生物工程股份有限公司合成。采用相对定量，选择 20 μL 体系，以 β-肌动蛋白（β-actin）作为内参，用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因 mRNA 表达量。

表 2　实时荧光定量 PCR 引物序列及参数

Table 2　Primer sequences and parameters for fluorescence-based quantitative real-time PCR

项目 Items	序列 Sequences (5’-3’)	产物 Products/bp
白细胞介素 1 *IL*-1	F：CCTCCGACGAGTTTCTGTGT	161
	R：AAAGCTCATGCAGAACACCA	
白细胞介素 6 *IL*-6	F：GCCTTCACTCCATTCGCTGTC	110
	R：CTGCCTGGGGTGGTGTCATT	
白细胞介素 10 *IL*-10	F：GTGATGCCACAGGCTGAGAAC	213
	R：GAAGATGTCAAACTCACTCATGG	
肿瘤坏死因子-α *TNF*-α	F：CCTGCCAATGTTTCCAGACT	183
	R：GGCAGCCCTTAGTTTGTGTC	
β-肌动蛋白 β-actin	F：TGGACTGTTAGCTGCGTTACACC	186
	R：TCTCGATCCAACCGACTGCT	

1.5　数据统计与分析

使用Excel 2007整理试验数据，采用相对定量$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对试验数据进行计算。采用SPSS 17.0统计软件中的one-way ANOVA程序进行单因素方差分析，当单因素方差分析差异显著时，采用Duncan氏法进行平均值的多重比较，$P<0.05$为差异显著。

2　结果与分析

2.1　茶皂素对奶牛生产性能的影响

从表 3 中可以看出，与对照组相比，15、30、45 g/d 茶皂素组奶牛平均日采食量、产奶量及各乳成分含量等指标均无显著差异（$P>0.05$），这说明茶皂素对奶牛机体在生产性能上无不良影响，为后期试验数据的可靠性提供了依据。

表3　茶皂素对奶牛平均日采食量、产奶量和乳成分的影响

Table 3　Effects of tea saponin on ADFI, milk yield and milk composition of dairy cows

项目	茶皂素灌注水平 Tea saponin infusion level/(g/d)

Items	0	15	30	45
产奶量 Milk yield/(kg/d)	22.71±3.41	21.42±5.46	22.34±3.18	21.59±6.51
平均日采食量 ADFI/(kg/d)	19.09±1.21	18.72±1.54	18.92±1.38	18.76±1.25
乳脂校正乳 FCM/(kg/d)	19.88±1.61	18.88±1.78	19.76±1.52	19.39±3.07
乳脂率 Milk fat content/%	3.17±0.49	3.21±0.73	3.23±0.52	3.32±0.48
乳蛋白率 Milk protein content/%	2.81±0.17	2.98±0.21	2.92±0.28	2.86±0.31
乳糖率 Lactose content/%	4.91±0.14	4.89±0.21	4.96±0.15	4.87±0.26
体细胞 Somatic cell count/(10^4/mL)	23.03±1.31	24.80±3.50	23.27±3.26	26.97±3.86
饲料转化效率 Feed efficiency /%	1.14±0.11	1.01±0.15	1.05±0.09	1.03±0.17

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05），相同或无字母表示差异不显著（*P*>0.05）。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference (*P*<0.05), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference (*P*>0.05). The same as below.

2.2 茶皂素对奶牛血清免疫指标的影响

从表4中可以看出，与对照组相比，15、30、45 g/d茶皂素组血清IgM含量均有所提高，30 g/d茶皂素组血清IgM含量显著提高（*P*<0.05），但各组血清IgA、IgG含量均无显著差异(*P*＞0.05)。与对照组相比，15、30、45 g/d茶皂素组血清IgG含量均有一定程度的提高，并随着茶皂素灌注水平提高而逐渐降低。

表4 茶皂素对奶牛血清中免疫球蛋白含量的影响

Table 4 Effects of tea saponin on serum immunoglobulin content of dairy cows

项目	茶皂素灌注水平 Tea saponin infusion level/(g/d)			
Items	0	15	30	45
免疫球蛋白A IgA/(ng/mL)	10.66±3.75	9.37±3.22	10.61±1.92	9.34±2.42
免疫球蛋白M IgM/(ng/mL)	87.54±8.99^{a}	98.23±3.92^{ab}	116.65±13.03^{b}	92.57±8.65^{ab}
免疫球蛋白G IgG/(μg/mL)	9.49±0.54	11.29±0.94	10.76±0.69	10.49±2.01

从表5中可以看出，15 g/d茶皂素组血清IL-1含量显著高于对照组和45 g/d茶皂素组(*P*<0.05)，并随着茶皂素灌注水平提高而逐渐降低。随着茶皂素灌注水平的提高，血清TNF-α含量呈先增加后降低的趋势，且30 g/d茶皂素组血清TNF-α含量最高，与对照组差异显著(*P*<0.05)。

表5 茶皂素对奶牛血清中免疫相关细胞因子含量的影响

Table 5 Effects of tea saponin on serum immune related cytokine contents of dairy cows

ng/L

项目 茶皂素灌注水平 Tea saponin infusion level/(g/d)

Items	0	15	30	45
白细胞介素1 IL-1	39.53±5.29[a]	52.61±5.88[b]	45.18±7.41[ab]	42.50±3.20[a]
白细胞介素6 IL-6	2.78±0.40	2.81±0.34	3.31±0.59	3.97±0.60
白细胞介素10 IL-10	23.98±3.52	28.63±5.48	30.48±5.72	25.23±6.90
肿瘤坏死因子α TNF-α	7.54±1.29[a]	8.17±1.31[ab]	9.21±1.22[b]	8.23±1.38[ab]

2.3　茶皂素对奶牛免疫相关细胞因子 mRNA 表达量的影响

从表6中可以看出，与对照组相比，15、30、45 g/d茶皂素组*IL*-1、*IL*-6、*IL*-10、*TNF-α* mRNA表达量均无显著差异（*P*>0.05），但45 g/d茶皂素组可提高以上细胞因子mRNA表达量，*IL*-6 mRNA表达量是对照组5.95倍，*IL*-1、*IL*-10、*TNF*-α mRNA表达量也都是对照组2倍以上。与对照组相比，15、30、45 g/d茶皂素组均可提高*IL*-6 mRNA表达量。

表6　茶皂素对奶牛免疫相关细胞因子mRNA表达量的影响

Table 6　Effects of tea saponin on the immune related cytokine mRNA expression levels of dairy cows

项目 Items		茶皂素灌注水平 Tea saponin infusion level/(g/d) 0	15	30	45
白细胞介素1 *IL*-1	△Ct	7.75±6.19	8.11±4.45	9.04±2.42	9.26±2.79
	*F*值 *F*-value	1.00	0.45	0.35	2.79
白细胞介素6 IL-6	△C	9.87±6.35	13.31±5.88	13.49±1.95	12.60±3.99
	*F*值 *F*-value	1.00	2.79	1.63	5.95
白细胞介素10 IL-10	△C	7.62±5.64	9.58±2.15	9.70±1.58	10.12±2.90
	*F*值 *F*-value	1.00	0.84	0.86	2.03
肿瘤坏死因子α TNF-α	△C	5.40±4.86	5.68±2.88	5.98±1.35	6.96±1.60
	*F*值 *F*-value	1.00	0.16	0.39	2.68

3　讨　论

3.1　茶皂素对奶牛血清免疫指标的影响

本试验通过测定血清中免疫球蛋白、白细胞介素及TNF-α的含量，研究茶皂素对奶牛免疫指标的影响，结果显示30 g/d茶皂素组与对照组相比，可显著提高血清中IgM的含量，并随着茶皂素灌注水平的增加，血清中IgM的含量呈现先增加后减小的趋势。而茶皂素对血清中IgA、IgG含量均无显著差异。血清总蛋白指的是体内血清蛋白质含量的总称，主要包含了白蛋白和球蛋白。球蛋白是由淋巴细胞产生的，具有免疫调节作用。在肉鸡饮用水中添加不同含量茶皂素，发现400 mg/L剂量组对十二指肠防御素和IgA含量有显著提高作用[12]。另有研究显示，一定剂量的茶皂素可以促进固始鸡免疫器官发育，促进肉鸡肠绒毛生长，增加

肠道对营养的吸收面积，提高T淋巴细胞亚群的水平[13-14]。同时，研究发现，与外周免疫器官脾脏相比，茶皂素对法氏囊和胸腺的作用更强[7]。给长沙黄鸡喂含有茶皂素的饲粮，试验组血清淋巴细胞转化率、IgG含量、IL-2含量均有提高效果[15]。本试验与前人研究有所差异，分析原因可能是由于试验动物的种属差异性。有研究报道，茶皂素对雏鸡免疫器官的成熟具有明显的促进作用，使雏鸡的生产性能明显提高，因此在饲粮添加茶皂素类添加剂能促进鸡免疫器官发育[16]。

本试验结果中，15 g/d茶皂素组血清IL-1含量与对照组和45 g/d茶皂素组相比差异显著，与对照组相比，15、30、45 g/d茶皂素组均提高了血清IL-1含量。30 g/d皂素组血清TNF-α含量最高，与对照组差异显著，并随着茶皂素灌注水平的增加，血清TNF-α含量呈先增加后减小的趋势。从本试验结果可以看出，与对照组相比，15、30、45 g/d茶皂素组血清中IgM、IL-1、TNF-α均有所提高。本试验探究与分析了茶皂素对奶牛血清中免疫球蛋白及细胞因子含量的变化规律，可为进一步研究茶皂素对奶牛免疫功能的影响提供试验依据。

3.2　茶皂素对奶牛免疫相关细胞因子mRNA表达量的影响

细胞因子是由多种细胞产生的低分子量可溶性蛋白质，具有免疫调节、细胞生长以及修复损伤组织等多种生物学功能[17]。其类型包括白细胞介素、干扰素、肿瘤坏死因子超家族等。TNF-α是机体组织细胞发生免疫应答时分泌的一种具有免疫作用的炎性细胞因子，与白细胞介素、干扰素等其他细胞因子共同参与到炎症免疫反应中。目前，关于茶皂素对细胞因子作用的国内外研究较少，免疫系统可通过细胞因子如TNF-α、IL-6传递信息给其他生理系统提高免疫水平。本试验结果也发现，灌注不同水平茶皂素均可提高*IL*-6 mRNA表达量，具有一定促进作用。IL-6是Kshimoto等[18]从T细胞中首先获得的一种糖蛋白，它是机体发生免疫应答时分泌的一种细胞因子，已在B细胞、巨噬细胞以及纤维母细胞中被发现[19]。TNF-α是通过用灵杆菌脂多糖注射小鼠后，发现小鼠血清中出现一种能够诱导肿瘤组织发生出血，并引起肿瘤坏死的物质[20]，故被后人命名为肿瘤坏死因子。本试验发现，与对照组相比，45 g/d茶皂素组均可提高细胞因子*IL*-1、*IL*-6、*IL*-10、*TNF-α* mRNA表达量，且45 g/d茶皂素组*IL*-6 mRNA表达量是对照组5.95倍，*IL*-1、*IL*-10、*TNF-α* mRNA表达量也都是对照组2倍以上。

从20世纪80年代，我国开始对茶皂素进行工业化生产。到目前为止，已在纺织、建筑、化妆品和材料加工等领域有了较为广泛的应用[21-23]，但在畜牧生产中尚未得到充分利用。有研究报道[24]，茶皂素可以显著提高肉牛血清中超氧化物歧化酶、脂肪酶活性和总蛋白含量，降低血清胆固醇含量，提高牛的免疫机能和抗氧化水平。有研究报道，饲粮中添加茶皂素对肉鸡的脾脏指数和胸腺指数没有显著影响，但有提高的趋势[25]。本试验研究发现，茶皂素能在一定程度上提高血清免疫球蛋白及免疫相关细胞因子的含量，并对*IL*-6 mRNA表达量有促进作用，为提高奶牛机体免疫功能问题提供了新的解决思路，同时为进一步研究茶皂素作为调控奶牛天然饲料添加剂提供了研究基础。

4 结 论

茶皂素可提高奶牛血清中免疫球蛋白及免疫相关细胞因子含量，并提高细胞因子*IL*-6 mRNA表达量，表明茶皂素可提高奶牛免疫功能。

参考文献：

[1] LAI Z F,SHAO Z Q,CHEN Y Z,et al.Effects of sasanquasaponin on ischemia and reperfusion injury in mouse hearts[J].Journal of Pharmacological Sciences,2004,94(3):313–324.

[2] MURAKAMI T,NAKAMURA J,MATSUDA H,et al.Bioactive saponins and glycosides.ⅩⅤ.Saponin constituents with gastroprotective effect from the seeds of tea plant,*Camellia Sinensis* L. var. *assamica* PIERRE,cultivated in Sri Lanka:structures of assamsaponins A,B,C,D,and E[J].Chemical and Pharmaceutical Bulletin,1999,47(12):1759–1764.

[3] 柳荣祥.几种山茶属植物皂素的化学及活性研究综述[J].茶叶,1997,23(1):22–25,35.

[4] 彭春雨,孟庆翔,任丽萍,等.植物提取物对奶牛产奶性能和血液指标的影响[J].饲料研究,2011(7):8–10.

[5] SAGESAKA M Y,SUGIURA T,MIWA Y,et al.Effect of tea-leaf saponin on blood pressure of spontaneously hypertensive rats[J].Yakugaku Zasshi,1996,116(5):388–395.

[6] 童勇,李玉山.茶皂素耐缺氧及抗氧化作用的实验研究[J].中外健康文摘,2009,6(22):19–21.

[7] 韩志红,刘义庆,庹新兰,等.茶皂素对荷瘤小鼠肿瘤抑制作用研究[J].武汉职工医学院学报,1998,26(1):5–6.

[8] 李静姬,李国江.糖萜素对雏鸡生产性能和免疫器官的影响[J].中国畜牧兽医,2005,32(1):20–22.

[9] 陈玮,周裔彬,宛晓春,等.茶皂素对肉仔鸡生长性能、屠宰性能和肉质的影响[J].粮食与饲料工业,2010(9):49–51.

[10] 冯仰廉,周建民,张晓明,等.我国奶牛饲料产奶净能值测算方法的研究[J].中国畜牧杂志,1987(1):8–11.

[11] WU T Y,WANG C,DING L Y,et al.Arginine relieves the inflammatory response and enhances the casein expression in bovine mammary epithelial cells induced by lipopolysaccharide[J].Mediators of Inflammation,2016,2016:9618795.

[12] 沈维武,徐锐,詹勇,等.水溶性糖萜素对肉鸡生长性能和小肠黏膜免疫功能的影响[J].中国畜牧杂志,2012,48(1):59–62.

[13] 黄鹏,赵珊珊,张学武,等.糖萜素对固始鸡免疫器官发育及T淋巴细胞亚群的影响[J].中国畜牧兽医,2011,38(12):64–67.

[14] 黄鹏,赵珊珊,张学武,等.糖萜素对固始鸡小肠黏膜结构的影响[J].动物营养学报,2011,23(11):2016–2023.

[15] 曾一鸣,周红丽.糖萜素对长沙黄鸡生长性能和免疫力的影响研究[J].当代畜牧,2005(4):19–20.

[16] 陈宝江,赵学军,谷子林,等.糖萜素对绿壳蛋鸡生产性能的影响[J].兽药与饲料添加剂,2001,6(5):8–10.

[17] 巴德年.微生物学[M].北京市:北京医科大学,中国协和医科大学联合出版社,1998:1034.

[18] KISHIMOTO T,HIRANO T,KIKUTANI H,et al.Regulation of growth and differentiation of human B cells[M]//FELDMANN M,LAMB J R,WOODY J N.Human T Cell Clones.Clifton:Humana Press,1985,9:349–359.

[19] 刘显东,毛海峰.白细胞介素-6的生物学功能及与运动的关系探讨[J].宜春学院学报,2009,31(6):166–168.

[20] CARSWELL E A,OLD L J,KASSEL R L,et al.An endotoxin-indncted serum factor that causes necrosis of tumors[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,1975,72(9):3666–3670.

[21] 曹江绒.茶皂素的提取、纯化及在洗发液中的应用研究[D].硕士学位论文.西安:陕西科技大学,2014.

[22] 杨强,张石蕊.茶皂素在动物生产中的应用[J].中国饲料,2007(8):8–10.

[23] 赵娟.茶皂素的精制[D].硕士学位论文.无锡:江南大学,2011.

[24] 王雅静.糖萜素、牛至油对育肥后期肉牛作用效果的研究[D].硕士学位论文.重庆:西南大学,2007.

[25] 袁钟宇,张石蕊,贺喜,等.茶籽多糖及茶皂素对肉鸡生长性能和肠道微生物的影响[J].中国畜牧杂志,2010,46(7):28–31.

Effects of Tea Saponin on Immune Function of Dairy Cows

CHANG Xiaoxiao[1] ZHANG Yifu[1] ZHAO Shiping[1] JIANG Qihui[1] WANG Bing[1]
FANG Luoyun[1] XIONG Benhai[2*] JIANG Linshu[1*]

(1. *Key Laboratory for Dairy Cow Nutrition*, *College of Animal Science and Technology*, *Beijing University of Agriculture*, *Beijing* 102206, *China*; 2. *Institute of Animal Science*, *Chinese Academy of Agricultural Sciences*, *Beijing* 100193, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of tea saponin on serum immune related cytokines contents and their mRNA expression levels of Holstein cows. Four rumen fistulated cows were used following a 4×4 Latin square design with different infusion concentrations of tea saponin [0 (control), 15, 30, 45 g/d]. The experiment had 4 periods, and each period consisted of 14 d per feeding period and 7 d sampling period. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method kit was used to measure the contents of immunoglobulins, interleukin and tumor necrosis factor alpha （TNF-α） in serum. Quantitative real-time PCR was used to measure the mRNA expression levels of interleukin-1 (*IL*-1), interleukin-6 (*IL*-6), interleukin-10 (*IL*-10) and *TNF-α*. The results showed as follows: 1) the serum immunoglobulin M （IgM） content of dairy cow in 30 g/d tea saponin group was significantly higher than that in control group (P<0.05). 2) The serum IL-1 content in 15 g/d tea saponin group was significantly higher than that in control group and 45 g/d tea saponin group (P<0.05). 3) Compared with the control group, the mRNA expression levels of *IL*-1, *IL*-10, *IL*-6 and *TNF-α* in 15, 30 and 45 g/d tea saponin groups were not significantly different （P>0.05）, but the mRNA expression levels of above cytokines in 45 g/d tea saponin group was increased. In conclusion, tea saponin can

improve the contents of immunoglobulins and immune related cytokines in serum, as well as the mRNA expression level of cytokine *IL*-6, which indicate that tea saponin can improve the immune function of dairy cows.

Key words: tea saponin; immunity; cytokines; dairy cows

---

*Corresponding authors: XIONG Benhai, professor, E-mail: xiongbenhai@caas.cn; JIANG Linshu, professor, E-mail: kjxnb@vip.sina.com (责任编辑　武海龙)